BULLETIN du MUSÉUM NATIONAL d'HISTOIRE NATURELLE

PUBLICATION BIMESTRIELLE

zoologie

55

N° 69 JUILLET - AOUT 1972

BULLETIN
du
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

57, rue Cuvier, 75005 Paris

Le *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, revue bimestrielle, paraît depuis 1895 et publie des travaux originaux relatifs aux diverses branches de la Science.

Les tomes 1 à 34 (1895-1928), constituant la 1re série, et les tomes 35 à 42 (1929-1970), constituant la 2e série, étaient formés de fascicules regroupant des articles divers.

A partir de 1971, le *Bulletin* 3e série est divisé en six sections (Zoologie — Botanique — Sciences de la Terre — Sciences de l'Homme — Sciences physico-chimiques — Écologie générale) et les articles paraissent, en principe, par fascicules séparés.

S'adresser :

— pour les **échanges,** à la Bibliothèque centrale du Muséum national d'Histoire naturelle, 38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris (C.C.P., Paris 9062-62) ;

— pour les **abonnements** et les **achats au numéro,** à la Librairie du Muséum 36, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris (C.C.P., Paris 17591-12 — Crédit Lyonnais, agence Y-425) ;

— pour tout ce qui concerne la **rédaction,** au Secrétariat du *Bulletin*, 57, rue Cuvier, 75005 Paris.

Abonnements :

ABONNEMENT GÉNÉRAL : France, 260 F ; Étranger, 286 F.

ZOOLOGIE : France, 200 F ; Étranger, 220 F.

SCIENCES DE LA TERRE : France, 50 F ; Étranger, 55 F.

SCIENCES DE L'HOMME : France, 45 F ; Étranger, 50 F.

BOTANIQUE : France, 40 F ; Étranger, 44 F.

SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE : France, 15 F ; Étranger, 16 F.

BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
3e série, no 69, juillet-août 1972, Zoologie 55

Apport de l'étude de la structure antigénique à la phylogénie des Helminthes [1]

par A. Capron, E. R. Brygoo et D. Afchain *

Résumé. — L'étude immunoélectrophorétique de la structure comparée de Rhabditoidea libres et de Nématodes parasites nous montre l'importance de l'héritage antigénique légué par les formes ancestrales libres aux formes parasites. Les parentés antigéniques unissant, par exemple, un Rhabditoidea libre comme *Panagrellus silusiae* à un Ascaridoidea parasite comme *Toxocara canis* sont de l'ordre de douze composants antigéniques au minimum.

Les réactions croisées, observées en immunoélectrophorèse, des Helminthes parasites avec les Turbellariés et les Acanthocéphales sont minimes ; les possibilités de cette technique immunochimique ne nous permettent pas de les rattacher à une classe bien définie.

Abstract. — Immunoelectrophoretic analysis of soluble extracts of free Rhabditoidea and parasitic Nematodes demonstrate a close antigenic relationship between free ancestral forms and parasitic organisms. A minimum of twelwe antigenic determinants were found to be common to *Panagrellus silusiae* and *Toxocara canis*.

Common antigens between parasitic helminths and Turbellaria or Acanthocephala were not found to be significant enough to support any hypothesis concerning their relationship.

Introduction

L'analyse immunoélectrophorétique de la structure antigénique des Helminthes parasites (Biguet et coll., 1965 ; Capron et coll., 1965 ; Rosé, 1966), l'étude des aspects immunologiques des relations hôte-parasite (Capron et coll., 1966, 1968) et la comparaison de la structure antigénique des vertébrés inférieurs dans un but taxonomique (Capron et Afchain, 1970) ont permis de montrer l'apport indiscutable des méthodes d'immunodiffusion en gel pour toute étude zoologique, taxonomique et biologique.

Après un bref rappel des travaux antérieurs sur les parentés antigéniques des Helminthes parasites, nous avons tenté d'apporter quelques arguments immunochimiques pour la connaissance de la phylogénie des Helminthes.

1. Travail réalisé avec l'aide du CNRS, grâce à la collaboration technique de Mme Thérèse Le Presle.
* *Service de Parasitologie, Faculté de Médecine, 59000 Lille, France, et Institut Pasteur de Madagascar.*

I. TECHNIQUES

1. Antigènes

Les antigènes furent constitués par des extraits totaux de vers récoltés vivants, broyés à basse température dans du chlorure de sodium à 0,017 M et centrifugés à 20 000 tours par minute. Le surnageant est dialysé contre de l'eau distillée, puis lyophilisé.

Furent utilisés des extraits antigéniques de :

— Rhabditoidea libres [1] :

- *Panagrellus silusiae*
- *Rhabditis* sp.
- *Caenorhabditis elegans* Maupas, 1900

— Nématodes parasites phasmidiens :

- *Ascaris suum, Ascaris lumbricoides, Parascaris equorum, Toxocara canis, Toxocara cati, Onchocerca volvulus, Dipetalonema viteae, Litomosoides carinii, Ankylostoma duodenale, Angiostrongylus cantonensis.*

— Turbellariés (Planaire) :

- *Dugesia gonocephala* asexuée [2]

— Acanthocéphales :

- de rat : *Moniliformis rattus*
- de porc : *Macracanthorhynchus hirudinaceus*

— Cestodes et Trématodes.

2. Antisérums

Des immunsérums de lapins furent préparés par injection hebdomadaire dans l'espace sous-axillaire avec de l'antigène soluble émulsionné dans de l'adjuvant de Freund complet.

1. Nous exprimons toute notre gratitude à M. le Professeur Puylaert (Musée royal de l'Afrique centrale, Tervuren, Belgique), ainsi qu'à M. le Professeur Nigon et M. J. L. Brun (Faculté des Sciences de Lyon), qui ont bien voulu nous adresser les souches.

2. Nous exprimons toute notre gratitude à M. le Professeur Lender et M. A. Le Moigne (Faculté des Sciences d'Orsay) qui ont bien voulu nous adresser la souche.

3. Méthodes

L'analyse immunoélectrophorétique fut réalisée selon les principes techniques de Grabar et Williams (1953), appliqués au matériel parasitaire par Biguet et coll. (1960), (gel d'agarose, tampon véronal pH = 8,2, force ionique = 0,1, champ électrique 20 volts Cm^{-1}).

II. RÉSULTATS

Nous avons comparé la structure de ces Helminthes en confrontant les antigènes d'une espèce avec les immunsérums des autres espèces.

1. Némathelminthes

a) *Parentés antigéniques des Nématodes parasites*

Les travaux de Biguet et coll. (1965), Rosé (1966) et Capron et coll. (1968) avaient précédemment mis l'accent sur l'homogénéité relative de structure des Nématodes parasites. Nous ne ferons ici qu'en rappeler l'essentiel.

Les parentés antigéniques sont remarquablement importantes pour les espèces : *Ascaris suum, A. lumbricoides, Parascaris equorum* (dix-huit à dix-neuf arcs de précipitation au minimum).

Les espèces *Toxocara canis* et *Toxocara cati* sont immunologiquement très voisines (seize composants antigéniques communs).

Quant aux réactions croisées entre les Ascaridinae et les Toxocarinae, elles diminuent tout en restant notables (douze arcs communs).

Les Heterakoidea d'Oiseaux (*Ascaridia galli* et *A. columbae*) possèdent encore des parentés non négligeables (huit à dix composants antigéniques communs) avec les Toxocarinae.

En ce qui concerne les Filaires, les parentés antigéniques portent aussi sur un grand nombre de fractions ; celles qui existent entre les Ascarides et les Filaires sont également importantes (de l'ordre de dix).

On notera le nombre très réduit des parentés antigéniques entre les Phasmidiens (Ascaridoidea, Filarioidea) et un Aphasmidien tel que *Trichinella spiralis* (au maximum trois arcs de précipitation).

Donc les Nématodes parasites présentent une homogénéité de structure relative, conduisant à l'existence entre deux super-familles de parentés antigéniques intéressant pratiquement la moitié de la structure antigénique.

b) *Parentés antigéniques des Nématodes libres étudiés. Ordre des Rhabditida* (tabl. I)

Les espèces *Caenorhabditis elegans* et *Rhabditis* sp., appartenant à la même sous-famille des Rhabditinae, sont immunologiquement très voisines (dix-sept composants antigé-

niques communs). *Panagrellus silusiae* (famille des Cephalobidae) possède des parentés non négligeables avec les deux espèces précédentes de la famille des Rhabditidae (neuf et onze arcs de précipitation en commun).

Donc, comme pour les Nématodes parasites, on remarque au niveau de la famille des parentés antigéniques remarquablement importantes portant environ sur les trois quarts de leur structure ; par contre, entre deux familles, celles-ci diminuent tout en restant notables.

Tableau I. — Parentés antigéniques des Nématodes libres étudiés (Ordre des Rhabditida).
(Réactions croisées minimales observées en immunoélectrophorèse).

Antisérum	Famille des Cephalobidae	Famille des Rhabditidae	
	Antigènes		
	Panagrellus silusiae	*Rhabditis* sp.	*Caenorhabditis elegans*
Panagrellus silusiae	*25*	11	9
Rhabditis sp.	11	*24*	17
Caenorhabditis elegans	9	17	*21*

c) *Parentés antigéniques des Nématodes libres avec les Nématodes parasites* (tabl. II)

Nous avons comparé, par la méthode de l'immunoélectrophorèse, la structure antigénique des trois espèces de Nématodes libres étudiés précédemment et appartenant à l'ordre des Rhabditida, avec celles de dix espèces de Nématodes parasites appartenant aux ordres des Ascaridida, Spirurida et Strongylida.

A quelques différences près (tenant surtout à la moins bonne qualité de l'antisérum *Caenorhabditis elegans* et aux rapports antigène — anticorps qui sont variables pour chaque type de réaction croisée), les résultats obtenus, résumés dans le tableau II, se recoupent assez bien.

On remarque, à première vue, l'importance des parentés antigéniques unissant les Rhabditida libres et les Nématodes Secernentea parasites.

Cette très forte isologie immunochimique nous montre encore la remarquable homogénéité de structure des Némathelminthes et l'importance de l'héritage antigénique légué par les formes ancestrales libres aux formes parasites, l'adaptation parasitaire n'ayant entraîné que peu de remaniements protéiques.

De plus, on notera l'importance des parentés antigéniques unissant les Nématodes libres aux espèces *Toxocara canis* et *Toxocara cati*, ces parentés étant nettement moins importantes avec les Ascarides de la sous-famille des Ascaridinae (*Ascaris suum*, *A. lumbricoides* et *Parascaris equorum*), les Filaires (ordre des Spirurida) et les Strongylida (*Ankylostoma duodenale* et *Angiostrongylus cantonensis*). Ces faits expérimentaux confirment bien

les théories de Chabaud (1955, 1957) sur l'interprétation phylétique des cycles évolutifs chez les Nématodes parasites de Vertébrés, à savoir que les Phasmidiens parasites seraient issus de Nématodes libres du type *Rhabditis* ; les espèces appartenant à la sous-famille des Toxocarinae (*Toxocara canis*)seraient le type le plus primitif, point de départ du phylum des Ascaridinae, puis des *Ascaridia*. Les Filaires et les Metastrongyloidea, issus des Rhabditides libres, appartiendraient à des phylums différents de celui des Ascarides.

Tableau II. — Parentés antigéniques des Nématodes libres avec les Nématodes parasites. (Nombre minimal de composants antigéniques communs observés en immunoélectrophorèse.)

				Ordre des Rhabditida		
				Panagrellus silusiae	*Rhabditis* sp.	*Caenorhabditis elegans*
Ordre des Ascaridida	Super-famille des Ascaridoidea	Sous-famille des Ascaridinae	*Ascaris suum*	6	8	5
			Ascaris lumbricoides	6	6	4
			Parascaris equorum	8	6	7
		Sous-famille des Toxocarinae	*Toxocara canis*	12	7	8
			Toxocara cati	9	9	4
Ordre des Spirurida	Super-famille des Filarioidea		*Onchocerca volvulus*	5	5	3
			Dipetalonema viteae	7	5	5
			Litomosoides carinii	5	5	5
Ordre des Strongylida	Super-famille des Ancylostomatoidea		*Ankylostoma duodenale*	5	4	3
	Super-famille des Metastrongyloidea		*Angiostrongylus cantonensis*	8	7	4

2. Plathelminthes

Nous ne ferons ici que rappeler les travaux effectués par Capron et coll. (1965, 1966, 1968).

a) *Cestodes*

Cette étude pratiquée chez douze espèces, appartenant à quatre familles différentes, montre une homogénéité de structure particulièrement remarquable (les parentés antigéniques intéressent au minimum les deux tiers de la mosaïque antigénique décelable).

b) *Trématodes*

Par contre, l'analyse antigénique comparée de onze espèces de Trématodes Digéniens révèle une disparité générale de structure antigénique qui contraste avec les faits précédemment exposés concernant les Nématodes et les Cestodes. En effet, les parentés antigéniques entre les Digenea appartenant à des genres différents n'excèdent guère cinq composants antigéniques.

3. Structure antigénique comparée des Helminthes Aspects phylogéniques

a) *Parentés antigéniques des Nématodes, Trématodes et Cestodes*

Cette étude immunoélectrophorétique a été réalisée par Capron et coll. (1968). Les parentés unissant ces trois classes sont vraiment minimes (en moyenne trois arcs de précipitation).

Nous avons noté précédemment que les parentés entre les Trématodes (Digenea) appartenant à des genres différents n'excèdent guère cinq fractions ; or, celles-ci apparaissent à peine supérieures et souvent égales aux composants antigéniques communs qui existent entre Digenea (*Fasciola hepatica*, *Schistosoma mansoni*) et Cyclophyllidea (*Taenia saginata*) ou entre Digenea et un Nématode Aphasmidien (*Trichinella spiralis*).

Sur ces bases, il est très délicat d'aborder l'aspect phylogénique entre ces trois groupes.

b) *Position phylogénique des Turbellariés et des Acanthocéphales*

Nous avons effectué les réactions croisées, en immunoélectrophorèse, des Plathelminthes parasites et des Némathelminthes avec les Turbellariés (*Dugesia gonocephala*) et les Acanthocéphales (de Porc et de Rat). Le tableau III résume les réactions croisées minimales qu'il fut possible d'obtenir.

On observe très peu de parentés antigéniques entre ces trois espèces et les Helminthes.

Les relations unissant la Planaire (*Dugesia gonocephala*) aux Némathelminthes sont négligeables ; celles qui l'unissent aux Cestodes et aux Trématodes Digenea sont très faibles. On notera néanmoins cinq composants antigéniques communs avec la grande Douve du foie (*Fasciola hepatica*) ; or, il est souvent classique de rapprocher les Turbellariés des Trématodes à cause du stade *Miracidium*. Mais, vu la disparité des structures antigéniques des Trématodes, d'où leur remaniement protéique important lors de l'évolution phylogénique, on ne pouvait s'attendre logiquement à de fortes parentés entre ces deux classes.

Pour les Acanthocéphales, on remarque une assez forte disparité des résultats obtenus pour les deux espèces : ceci est dû en grande partie à la mauvaise qualité de l'antisérum *Moniliformis rattus*.

On notera, en général, une assez bonne répartition des parentés antigéniques entre les trois classes (en moyenne deux à trois arcs de précipitation), les plus fortes réactions croisées ayant été obtenues par rapport aux antisérums et aux antigènes *Schistosoma mansoni* et liquide pseudocœlomique d'*Ascaris suum*.

Tableau III. — Parentés antigéniques des Plathelminthes parasites et des Némathelminthes avec les Turbellariés et les Acanthocéphales. (Réactions croisées minimales observées en immunoélectrophorèse.)

		Turbellariés	Acanthocéphales	
		Planaire	Acanthocéphale de Porc	Acanthocéphale de Rat
		Dugesia gonocephala	*Macracanthorhynchus hirudinaceus*	*Moniliformis rattus*
Trématodes				
	Fasciola hepatica	5	2	1
	Dicrocoelium dendriticum	1	1	0
	Schistosoma mansoni	3	5	4
	Paragonimus westermani	1	1	0
	Paragonimus ohirai	1	2	0
Cestodes				
	Taenia saginata	2	2	2
	Echinococcus granulosus (liquide hydatique)	2	1	0
	Hymenolepis nana	2	3	3
	Dipylidium caninum	2	3	2
Némathelminthes				
Parasites	Liquide pseudocoelomique d'*Ascaris suum*	1	5	2
Parasites	*Ascaris lumbricoides*	—	2	0
Parasites	*Parascaris equorum*	—	2	0
Parasites	*Toxocara canis*	2	3	2
Parasites	*Onchocerca volvulus*	0	1	0
Parasites	*Dirofilaria immitis*	0	1	—
Parasites	*Dipetalonema viteae*	1	1	2
Parasites	*Angiostrongylus cantonensis*	0	2	2
Libres	*Panagrellus silusiae*	1	2	1
Libres	*Rhabditis* sp.	0	2	0
Libres	*Caenorhabditis elegans*	—	3	—

Les résultats obtenus ne nous permettent pas de les rattacher à une classe bien définie.

On notera, toutefois, que l'étude des parentés antigéniques entre *Macracanthorhynchus hirudinaceus* et *Moniliformis rattus* révèle l'existence d'un minimum de quinze déterminants antigéniques communs à ces deux espèces sur les vingt-quatre qui furent au maxi-

mum identifiés sur les immunoélectrophorégrammes. Cette observation, qui paraît être l'indication d'une homogénéité certaine de structure chez les Acanthocéphales, rend plus significative encore l'absence de parentés qu'ils présentent avec les autres classes d'Helminthes parasites et nous semble une indication de l'individualité phylogénique de ce groupe.

e) *Comparaison des Helminthes (Trématodes, Cestodes, Némathelminthes, Acanthocéphales et Turbellariés) avec d'autres embranchements*

Nous avons comparé la structure antigénique des Helminthes précédemment étudiés avec celles d'espèces appartenant à divers embranchements — Mollusques : *Biomphalaria glabrata, Bulinus contortus, Planorbis corneus* ; Annélides : *Hirudo officinalis, Nereis diversicolor, Lumbricus herculeus* ; Arthropodes (Crustacés : *Gammarus pulex* ; Insectes : *Tenebrio molitor, Culex pipiens*) ; Échinodermes : *Paracentrotus lividus.*

Les parentés antigéniques obtenues sont négligeables (de l'ordre d'une à deux fractions).

Conclusion

L'analyse immunoélectrophorétique apporte souvent de nombreux arguments expérimentaux aux méthodes zoologiques et biologiques concernant la taxonomie et la phylogénie. Mais les possibilités restreintes de cette technique (analyse des protéines solubles décelables) ne nous permettent pas d'envisager la phylogénie et la taxonomie au niveau des embranchements et même des ordres. Par contre, elle semble être une méthode de choix pour la comparaison de diverses espèces appartenant à une même famille et dans certains cas de familles différentes appartenant à un même ordre.

Cette étude détaillée ne nous a pas permis d'envisager la phylogénie des diverses classes d'Helminthes et de rattacher les Turbellariés et les Acanthocéphales à une classe bien définie. Par contre, l'analyse immunoélectrophorétique comparée des Nématodes Rhabditida libres et des Nématodes Secernentea parasites a fourni des arguments expérimentaux aux théories phylogéniques sur les Némathelminthes.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Biguet, J., F. Rosé, A. Capron et P. Tran Van Ky, 1965. — Contribution de l'analyse immunoélectrophorétique à la connaissance des antigènes vermineux. Incidences pratiques sur leur standardisation, leur purification et le diagnostic des helminthiases par immunoélectrophorèse. *Rev. Immunol., Paris*, **29** : 5-23.

Biguet, J., F. Rosé et R. Havez, 1960. — Les possibilités d'application de l'immunoélectrophorèse à l'étude des fractions antigéniques des helminthes. *C. r. Acad. Sci., Paris*, **251** : 982-984.

Capron, A., et D. Afchain, 1970. — Structure antigénique et taxinomie des Vertébrés inférieurs. *Bull. Mus. Hist. nat., Paris*, **42** (1) : 122-125.

Capron, A., J. Biguet et A. Vernes, 1965. — Structure antigénique des helminthes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite. *Commun. Soc. franç. Parasit., Paris*, nov. 1965.

— 1966. — Structure antigénique des vertébrés et relation hôte-parasite chez les helminthes. *Commun. Soc. franç. Parasit., Paris*, nov. 1966.

Capron, A., J. Biguet, A. Vernes et D. Afchain, 1968. — Structure antigénique des Helminthes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite. *Path. Biol.*, **16** : 121-138.

Chabaud, A. G., 1955. — Essai d'interprétation phylétique des cycles évolutifs chez les nématodes parasites de vertébrés. Conclusions taxonomiques. *Ann. Parasit. hum. comp.*, **30** : 83-126.

— 1957. — Spécificité parasitaire chez les nématodes parasites de vertébrés. *In* : 1er Symposium sur la spécificité parasitaire des parasites de vertébrés. Édit. Attinger, Neuchâtel, 324 p.

Grabar, P., et C. A. Williams, 1953. — Method permitting the simultaneous study of electrophoretic and immunochemical properties of a protein. Application to blood serum. *Bioch. Biophys. Acta*, **10** : 193, 194.

Rosé, F., 1966. — Contribution à l'étude des antigènes de nématodes et des anticorps de l'hôte définitif. Thèse (Doctorat d'État en Pharmacie), Lille.

Manuscrit déposé le 2 juillet 1971.

Bull. Mus. Hist. nat., Paris, 3e sér., no 69, juillet-août 1972, Zoologie 55 : 877-885.

Achevé d'imprimer le 30 décembre 1972.

IMPRIMERIE NATIONALE

2 564 002 5

Recommandations aux auteurs

Les articles à publier doivent être adressés directement au Secrétariat du *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, 57, rue Cuvier, 75005 Paris. Ils seront accompagnés d'un résumé en une ou plusieurs langues. L'adresse du Laboratoire dans lequel le travail a été effectué figurera sur la première page, en note infrapaginale.

Le *texte* doit être dactylographié à double interligne, avec une marge suffisante, recto seulement. Pas de mots en majuscules, pas de soulignages (à l'exception des noms de genres et d'espèces soulignés d'un trait).

Il convient de numéroter les *tableaux* et de leur donner un titre ; les tableaux compliqués devront être préparés de façon à pouvoir être clichés comme une figure.

Les *références bibliographiques* apparaîtront selon les modèles suivants :

Bauchot, M.-L., J. Daget, J.-C. Hureau et Th. Monod, 1970. — Le problème des « auteurs secondaires » en taxionomie. *Bull. Mus. Hist. nat., Paris*, 2e sér., **42** (2) : 301-304.

Tinbergen, N., 1952. — The study of instinct. Oxford, Clarendon Press, 228 p.

Les *dessins* et *cartes* doivent être faits sur bristol blanc ou calque, à l'encre de chine. Envoyer les originaux. Les *photographies* seront le plus nettes possible, sur papier brillant, et normalement contrastées. L'emplacement des figures sera indiqué dans la marge et les légendes seront regroupées à la fin du texte, sur un feuillet séparé.

Un auteur ne pourra publier plus de 100 pages imprimées par an dans le *Bulletin*, en une ou plusieurs fois.

Une seule épreuve sera envoyée à l'auteur qui devra la retourner dans les quatre jours au Secrétariat, avec son manuscrit. Les « corrections d'auteurs » (modifications ou additions de texte) trop nombreuses, et non justifiées par une information de dernière heure, pourront être facturées aux auteurs.

Ceux-ci recevront gratuitement 50 exemplaires imprimés de leur travail. Ils pourront obtenir à leur frais des fascicules supplémentaires en s'adressant à la Bibliothèque centrale du Muséum : 38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris.


MUSEUM
NATIONAL
D'HIST. NAT.